

Extractos de subproductos alimentarios para mitigar la incidencia de *Campylobacter*

José Manuel Silván y Adolfo J. Martínez-Rodríguez. Jefe del Grupo Microbiología y Biocatálisis de Alimentos (MICROBIO). Departamento de Biotecnología y Microbiología de los Alimentos - Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL), CSIC-UAM

La lucha contra el *Campylobacter*, principal patógeno bacteriano asociado a los alimentos, es uno de los principales motivos de preocupación en materia de seguridad alimentaria. Desde MICROBIO se han realizado estudios para emplear frente a este 'enemigo' subproductos de la industria alimentaria, entre ellos, los procedentes de la producción de vino, que han demostrado ser activos frente a algunos microorganismos



Food by-product extracts to mitigate the incidence of *Campylobacter*

The fight against *Campylobacter*, the main food-associated bacterial pathogen, is one of the primary reasons for concern with regard to food safety.

The company MICROBIO has been conducting research into the use of food industry by-products to take on this 'enemy', including those arising from the production of wine, which have proven to be active against certain micro-organisms.

C*ampylobacter* es la principal causa de gastroenteritis bacteriana en humanos asociada a los alimentos en la mayor parte del mundo. Este microorganismo puede encontrarse a lo largo de toda la cadena alimentaria, principalmente la de la carne de pollo, su principal reservorio. Por esta razón, es de gran interés encontrar alternativas naturales y ambientalmente compatibles al uso de antibióticos y desinfectantes químicos. Los

subproductos alimentarios pueden ser una alternativa económica y sostenible como fuente de compuestos bioactivos útiles contra *Campylobacter*. La industria alimentaria genera una gran cantidad de subproductos y residuos ricos en materia orgánica que contribuyen significativamente a la contaminación ambiental. Por lo tanto, la gestión actual de estos recursos está encaminada a resolver los problemas de reciclado de los residuos mediante la utilización de los subproductos. En este trabajo se discute el efec-

to de los compuestos bioactivos presentes en estos subproductos alimentarios frente a *Campylobacter* y su papel en el control de este patógeno.

***Campylobacter*, toda una paradoja microbiológica**

Campylobacter es reconocido como la principal causa de gastroenteritis humana de origen bacteriano en muchos países industrializados, constituyendo una importante fuente de gastos para los sistemas públicos

de salud (Kaakoush y col., 2015). Desde el año 2005 hasta 2017 ha sido el patógeno bacteriano gastrointestinal más comúnmente reportado en la Unión Europea (UE). En las estadísticas correspondientes al año 2017, que son las últimas disponibles, el número de casos confirmados de campilobacteriosis humana fue de 246.158, con una tasa de notificación en la UE de 64,8 casos por cada 100.000 habitantes (Figura 1). A pesar de ser el principal patógeno bacteriano asociado a los alimentos, esta bacteria tiene requisitos muy estrictos para su crecimiento, lo que se ha considerado toda una paradoja microbiológica. Las especies de *Campylobacter* son microaerófilas, requiriendo una concentración reducida de oxígeno para poder desarrollarse. Las especies más relevantes desde el punto de vista epidemiológico (*C. jejuni* y *C. coli*) son también termófilas, creciendo mejor entre 40-42°C. Aunque *Campylobacter* se puede encontrar en diferentes lugares de nuestro entorno ambiental, el intestino de diversos mamíferos constituye su principal nicho, siendo la carne de pollo el reservorio principal asociado con la infección humana (Backert y col., 2016).

La contaminación suele producirse durante la manipulación de la carne cruda, y puede transmitirse mediante contaminación cruzada si, por ejemplo, se utilizan los mismos utensilios de cocina tanto para manipular la carne cruda como para preparar una ensalada. Muchas de las personas que sufren campilobacteriosis pueden recuperarse sin ninguna intervención terapéutica específica, aparte del reemplazo de líquidos y electrolitos. El tratamiento con antibióticos

El uso de algunos agentes químicos puede contribuir a disminuir la incidencia de *Campylobacter*. Sin embargo, su empleo da lugar a la acumulación de residuos que afectan la gestión medioambiental y la aceptación por parte del consumidor (Vandeplass et al., 2008). En este contexto, el empleo de subproductos naturales como fuente de compuestos bioactivos frente a este patógeno adquiere una particular relevancia

es generalmente necesario en pacientes con enteritis severa o prolongada, especialmente en bebés, ancianos, embarazadas, y personas inmunocomprometidas o con manifestaciones extra-intestinales de la enfermedad (Ganan et al., 2012).

Sin embargo, en los últimos años se ha incrementado de forma significativa la resistencia a muchos de los antibióticos utilizados para combatir esta infección, por lo que se hace imprescindible encontrar nuevas opciones terapéuticas disponibles. Se ha comprobado, por ejemplo, que la aplicación de medidas de higiene más estrictas puede reducir la infección por *Campylobacter* en las granjas de pollos, pero no es suficiente para erradicar el patógeno.

Por otra parte, el uso de algunos agentes químicos, tanto en granjas de producción como en plantas de procesamiento de carne de pollo, puede contribuir a disminuir la incidencia de *Campylobacter*. Sin embargo, su empleo da lugar a la acumulación de residuos químicos que afectan la gestión

medioambiental y la aceptación por parte del consumidor (Vandeplass et al., 2008). En este contexto, el empleo de subproductos naturales como fuente de compuestos bioactivos frente a *Campylobacter* adquiere una particular relevancia.

Valorización de desechos como alternativa para su control

La industria alimentaria ha crecido rápidamente en los últimos años debido a la globalización y al aumento de la población mundial, pero también han aumentado de forma significativa la cantidad de desechos y subproductos producidos, generando problemas de contaminación ambiental y aumentando la preocupación por la sostenibilidad del sistema (Figura 2). Por esta razón, se realizan numerosos esfuerzos por reciclar estos subproductos alimentarios, que pueden ser una fuente de valor añadido por su contenido, entre otros, de compuestos bioactivos como fibra dietética, proteínas y péptidos, lípidos, ácidos grasos y compuestos fenólicos (Jayatilakan y col., 2012). Muchos de estos subproductos han sido objeto de diversas investigaciones y se ha podido comprobar su potencialidad como antimicrobianos frente a *Campylobacter*.

Subproductos de origen vegetal

Los subproductos vegetales han sido uno de los puntos de partida principal para la obtención de extractos bioactivos frente a *Campylobacter*. Un ejemplo lo encontramos en la producción de vino, uno de los procesos industriales de gran importancia en España. Sin embargo, hasta el 40% de la uva utilizada termina como un subproducto derivado del proceso de vinificación (Friedman, 2014). Estos subproductos son ricos en sustancias bioactivas como la fibra dietética y los compuestos fenólicos y han demostrado ser activos frente a algunos microorganismos patógenos.

FIGURA 1. NÚMERO DE CASOS DE ZOONOSIS HUMANAS NOTIFICADAS EN LA UE EN EL AÑO 2017 (EFSA, 2018).

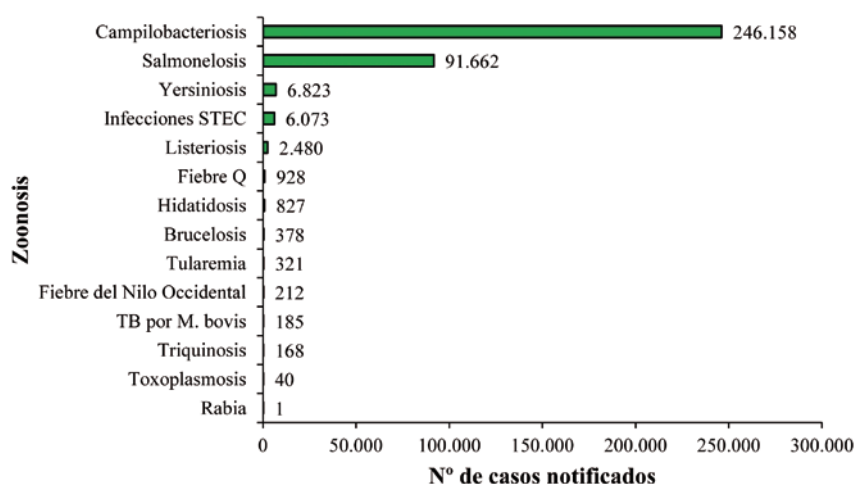
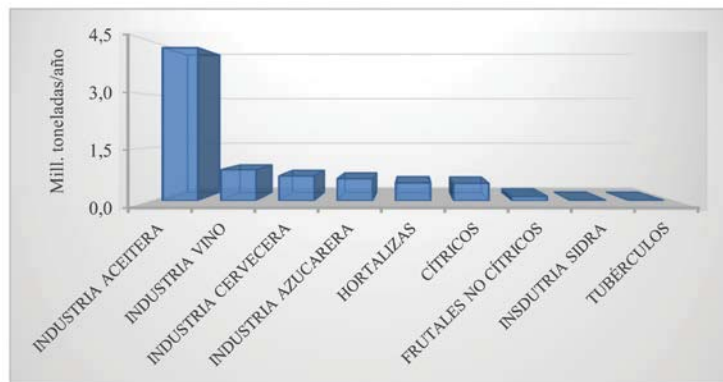




FIGURA 2. VOLUMEN DE SUBPRODUCTOS ALIMENTARIOS DE ORIGEN VEGETAL GENERADOS POR LAS PRINCIPALES INDUSTRIAS ALIMENTARIAS EN ESPAÑA (PROBIOGAS, 2010).



Como parte de nuestro trabajo, hemos observado que extractos obtenidos a partir de subproductos de vinificación de vino tinto con la variedad de uva tempranillo fueron capaces de inhibir el crecimiento de todas las cepas analizadas de *C. jejuni* y *C. coli* en un rango de concentración entre 0,04 y 0,1 mg/ml. La caracterización de la composición fenólica del extracto demostró que las catequinas y las proantocianidinas fueron las principales familias de compuestos involucradas en el efecto observado, mientras que el galato de epicatequina y el resveratrol fueron los fenoles individuales más activos frente a *Campylobacter* (Mingo y col, 2016).

Por su parte, los subproductos de la industria procesadora de frutas son muy susceptibles a la degradación bacteriana, lo que genera severos problemas medioambientales. Su reutilización se ha incrementado en los últimos años, ya que estos desechos son ricos en diversos componentes bioactivos, como los compuestos fenólicos (Khao y Chen, 2013). Se ha demostrado que extractos obtenidos a partir de cáscaras y semillas, subproductos del procesado de cítricos, son capaces de inhibir el crecimiento y de afectar otros factores de virulencia de *C. jejuni*, como es el caso de la capacidad de formar *biofilm*, que constituye una herramienta clave para la supervivencia de *Campylobacter* a lo largo de la cadena alimentaria (Castillo y col., 2017). Los aceites esenciales de los cítricos, que se encuentran principalmente en las cáscaras de las frutas, suelen desecharse como residuos. Estos compuestos han demostrado también su eficacia frente a *Campylobacter*, reduciendo de forma significativa su viabilidad, e identificándose el linalol y el limoneno entre los compuestos más efectivos (Thanissery y col., 2014).

Otros subproductos de alto valor añadido de la industria procesadora de cítricos son las pectinas y oligosacáridos pépticos, que se obtienen del procesamiento químico y/o enzimático de la pectina. En nuestro grupo de investigación hemos demostrado que extractos preparados con oligosacáridos pépticos de naranja son capaces de inhibir la invasión de *Campylobacter* en células del epitelio intestinal, un requisito indispensable para que se produzca la infección (Ganan y col., 2010).

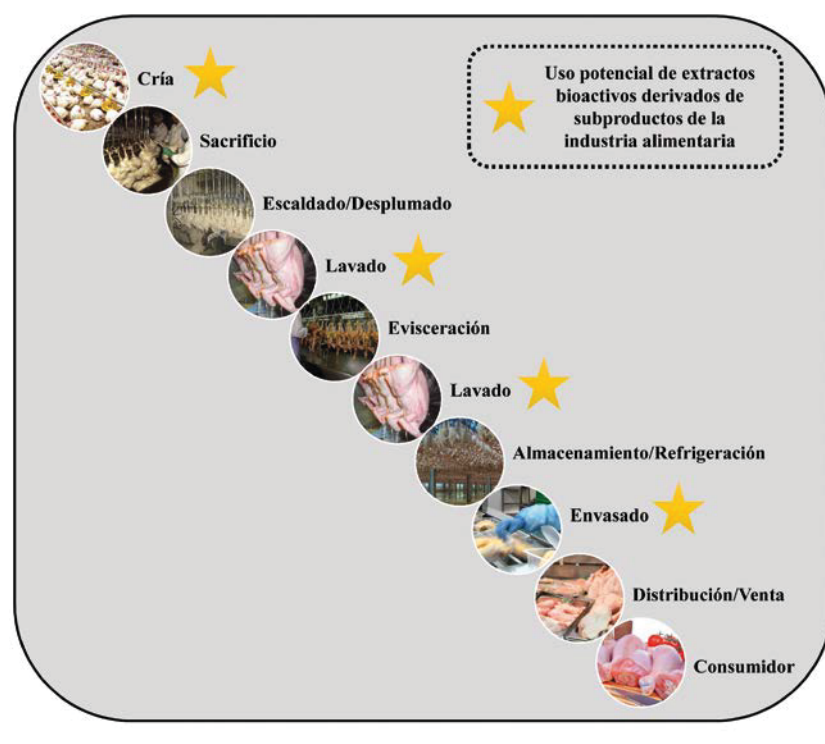
La producción de aceite de oliva es otra de las industrias de gran importancia en nuestro país y la que mayor cantidad de resi-

duos contaminantes y subproductos genera. En los últimos años se ha incrementado el interés por la reutilización de los subproductos generados por la misma, debido a su riqueza en compuestos fenólicos, ya que se estima que alrededor del 98% de los mismos permanecen en estos subproductos y no se transfieren al aceite (Araujo y col., 2015). Se ha demostrado que la suplementación de la dieta de los pollos de granja con extractos obtenidos de subproductos del proceso de elaboración del aceite de oliva produce una disminución significativa de la contaminación por *Campylobacter* a nivel de producción de alimentos (Branciaro y col., 2016). Similares resultados hemos obtenido recientemente en nuestro grupo de investigación, observando que extractos obtenidos de subproductos del aceite de oliva y ricos en compuestos fenólicos como el hidroxitirosol fueron capaces de disminuir significativamente la viabilidad de *Campylobacter* y reducir los marcadores de inflamación asociados a la infección con este patógeno (Silvan y col., 2019).

Subproductos de origen animal

Aunque menos numerosos que los subproductos de origen vegetal, algunos subproductos industriales de origen animal representan una fuente importante de com-

FIGURA 3. ETAPAS DE LA CADENA ALIMENTARIA DE LA CARNE DE POLLO Y PUNTOS CRÍTICOS DONDE PODRÍAN SER POTENCIALMENTE UTILIZADOS EXTRACTOS BIOACTIVOS DERIVADOS DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA ALIMENTARIA CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE AL PATÓGENO ALIMENTARIO *CAMPYLOBACTER*.



puestos bioactivos frente a *Campylobacter*. Unos de los más estudiados son el quitosano y los quitoooligosacáridos. El quitosano se produce comercialmente a partir de los caparzones de gambas, camarones y cangrejos que se encuentran formando parte de los subproductos derivados de la industria procesadora de estos crustáceos. Estudiando el efecto antibacteriano de quitosanos de tres pesos moleculares distintos frente a diferentes patógenos alimentarios, observamos que *Campylobacter* fue el microorganismo más sensible, independientemente del peso molecular del quitosano utilizado (Ganan y col., 2009). Además, en los últimos años y en el contexto de la industria alimentaria, los quitosanos y quitoooligosacáridos se ha utilizado como parte de diferentes materiales de envasado y revestimientos comestibles. Precisamente en este formato, se ha observado una reducción significativa en el recuento de *Campylobacter* en pechugas de pollo envasadas al vacío (Olaimat y col., 2014).

La industria láctea es una de las mayores productoras de subproductos de la industria alimentaria debido al suero lácteo que se obtiene en la elaboración del queso. Este suero lácteo está formado principalmente por lactosa (aproximadamente un 70%), proteínas y otras sustancias inorgánicas. Esta lactosa puede convertirse en ácido láctico por la acción de bacterias lácticas homofermentativas, y el ácido láctico obtenido tiene varias aplicaciones industriales. Entre ellas, se ha observado que la acidificación de la alimentación de los pollos de engorde con un 5,7% de ácido láctico tiene un efecto antimicrobiano sobre *Campylobacter* (Heres y col., 2004). Este procedimiento se ha utilizado en diferentes partes de la cadena alimentaria de la carne de pollo con mayor o menor éxito, pero constituye un antimicrobiano alternativo para el control de este patógeno.

Conclusiones: buen potencial en seguridad alimentaria

La creciente cantidad de subproductos derivados de la industria alimentaria hace necesario crear nuevas formas de reciclaje, desarrollando nuevas tecnologías para el tratamiento de residuos. En este trabajo se exponen algunos ejemplos que evidencian el potencial de los subproductos alimentarios como fuente de compuestos bioactivos contra *Campylobacter*, el principal patógeno bacteriano transmitido por los alimentos. La utilización de estos extractos contribuiría a

Los trabajos de MICROBIO observan que extractos obtenidos a partir de subproductos de vinificación de vino tinto con la variedad de uva tempranillo fueron capaces de inhibir el crecimiento de todas las cepas analizadas de *C. jejuni* y *C. coli* en un rango de concentración entre 0,04 y 0,1 mg/ml

la sostenibilidad de la industria alimentaria, promoviendo también la valorización de sus subproductos. Como hemos descrito a lo largo de este trabajo, nuestro grupo de investigación ha estudiado el potencial de numerosos extractos naturales como herramientas para el control de *Campylobacter*, y reúne las condiciones y el material necesario para ampliar a escala industrial las aplicaciones con mejores resultados a nivel de

laboratorio, con el fin de aumentar el interés del sector en este enfoque para explotar y revalorizar los subproductos alimentarios (figura 3). □

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGL2013-47694-R y AGL2017-89566-R del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

Referencias:

- Araújo, M., Pimentel, F.B., Alves, R.C., Oliveira, M.B.P.P. (2015). Phenolic compounds from olive mill wastes: health effects, analytical approach and application as food antioxidants. *Trends Food Sci. Technol.*, 45, 200-211.
- Backert, S., Tegtmeier, N., Croinin, T., Boehm, M., Heimesaat, M.M. (2016). Human campylobacteriosis. In: Klein, G. (Ed.), *Campylobacter features, Detection, and prevention of foodborne disease*, 1ª ed. Academic Press, Elsevier, Amsterdam, pp. 1-25.
- Castillo, S., Davila-Avina, J., Heredia, N., Garcia, S. (2017). Antioxidant activity and influence of Citrus byproduct extracts on adherence and invasion of *Campylobacter jejuni* and on the relative expression of *cadF* and *ciaB*. *Food Sci. Biotechnol.*, 26, 453-459.
- EFSA (2018). Scientific report of EFSA and ECDC. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2017. *EFSA Journal*, 16, 5500.
- Friedman, M., (2014). Antibacterial, antiviral, and antifungal properties of wines and winery byproducts in relation to their flavonoid content. *J. Agric. Food Chem.*, 62, 6025-6042.
- Ganan, M., Carrascosa, A.V., Martínez-Rodríguez, A.J. (2009). Antimicrobial activity of chitosan against *Campylobacter* spp. and other microorganisms and its mechanism of action. *J. Food Prot.*, 72, 1735-1738.
- Ganan, M., Collins, M., Rastall, R., Hotchkiss, A.T., Chau, H.K., Carrascosa, A.V., Martínez-Rodríguez, A.J. (2010). Inhibition by pectic oligosaccharides of the invasion of undifferentiated and differentiated Caco-2 cells by *Campylobacter jejuni*. *Int. J. Food Microbiol.*, 137, 181-185.
- Ganan, M., Silván, J.M., Carrascosa, A.V., Martínez-Rodríguez, A.J. (2012). Alternative strategies to use antibiotics or chemical products for controlling *Campylobacter* in the food chain. *Food Control*, 24, 6-14.
- Heres, L., Engel, B., Urlings, H.A., Wagenaar, J.A., van Knapen, F. (2004). Effect of acidified feed on susceptibility of broiler chickens to intestinal infection by *Campylobacter* and *Salmonella*. *Vet. Microbiol.*, 99, 259-267.
- Jayathilakan, K., Sultana, K., Radhakrishna, K., Bawa, A.S. (2012). Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: a review. *J. Food Sci. Technol.*, 49, 278-293.
- Kaakoush, N.O., Castaño-Rodríguez, N., Mitchell, H.M., Mana, S.M. (2015). Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clin. Microbiol. Rev.*, 28, 687-720.
- Khao, T.H., Chen, B.H. (2013). Fruits and vegetables. In: Chandrasekaran, M. (Ed.), *Valorization of food processing by-products*. Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL, USA, pp. 517-557.
- Mingo, E., Silván, J.M., Martínez-Rodríguez, A.J. (2016). Selective antibacterial effect on *Campylobacter* of a winemaking waste extract (WWE) as a source of active phenolic compounds. *LWT Food Sci. Technol.*, 68, 418-424.
- Olaimat, A.N., Fang, Y., Holley, R.A. (2014). Inhibition of *Campylobacter jejuni* on fresh chicken breasts by *k*-carrageenan/chitosan-based coatings containing allyl isothiocyanate or deodorized oriental mustard extract. *Int. J. Food Microbiol.*, 187, 77-82.
- Probiogas PSE (2010). Cuantificación de materias primas alimentarias de origen vegetal. Proyecto PROBIOGAS cofinanciado por el MICINN y fondos FEDER (2007-2011).
- Silván, J.M., Pinto-Bustillos, M.A., Vázquez-Ponce, P., Prodanov, M., Martínez-Rodríguez, A.J. (2019). Olive mill wastewater as potential source of antibacterial and anti-inflammatory compounds against the food-borne pathogen *Campylobacter*. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 51, 177-185.
- Thanisery, R., Kathariou, S., Smith, D.P. (2014). Rosemary oil, clove oil, and a mix of thyme-orange essential oils inhibit *Salmonella* and *Campylobacter* in vitro. *J. Appl. Poult. Res.*, 23, 221-227.
- Vandeplas, S., Marq, C., Dauphin, R.D., Beckers, Y., Thonart, P., Thewis, A. (2008). Contamination of poultry flocks by the human pathogen *Campylobacter* spp. and strategies to reduce its prevalence at the farm level. *Biotechnol. Agronomie Soc. Environ.*, 12, 317-334.